

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK
ETANOL DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz and Pav.)
DAN AMOKSISILIN TERHADAP BAKTERI *Streptococcus*
pneumoniae, *Pseudomonas aeruginosa*, DAN *Salmonella typhi*
SERTA BIOAUTOGRAFINYA**

NASKAH PUBLIKASI



Oleh:

**TRI WAHYUNING LESTARI
K100090121**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2013**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL
DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz and Pav.) DAN
AMOKSISILIN TERHADAP *Streptococcus pneumoniae*,
Pseudomonas aeruginosa, DAN *Salmonella typhi*
SERTA BIOAUTOGRAFINYA**

Oleh :

TRI WAHYUNING LESTARI

K100090121

Telah disetujui dan disahkan pada :

Hari :

Tanggal :

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,

Arifah Sri Wahyuni, M.Sc., Apt

Penguji I

Penguji II

Ika Trisharyanti DK, M.Farm., Apt

Rima Munawaroh, M.Sc., Apt

Pembimbing

Peni Indrayudha, M.Biotech., Apt

Mahasiswa

Tri Wahyuning Lestari

AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz and Pav.) DAN AMOKSISILIN TERHADAP *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, DAN *Salmonella typhi* SERTA BIOAUTOGRAFINYA

ANTIBACTERIAL ACTIVITIES ETHANOL EXTRACT COMBINATION RED BETLE LEAF (*Piper crocatum* Ruiz and Pav.) AND AMOXICILLIN SENSITIVE TO *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, AND *Salmonella typhi* ANTIBIOTICS WITH BIOAUTOGRAPHY

Tri Wahyuning Lestari, Peni Indrayudha
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. Ahmad Yani, Tromol Pos I, Pabelan Kartasura Surakarta 57102

ABSTRAK

Pengobatan penyakit infeksi yang paling umum adalah dengan terapi antibiotik. Pemilihan antibiotik yang tepat sangat diperlukan dalam proses penyembuhan infeksi. Antibiotik yang bisa digunakan sebagai pengobatan infeksi adalah amoksisilin. Amoksisilin merupakan antibiotik bersifat bakterisidal dengan spektrum yang luas, aktif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Daun sirih merah memiliki potensi menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini bertujuan mengetahui efek sinergis kombinasi ekstrak daun sirih merah dan amoksisilin terhadap bakteri *S.pneumoniae*, *P.aeruginosa* dan *S. typhi*. Metode yang digunakan ialah Difusi Kirby-Bauer dengan mengukur diameter zona hambat. Konsentrasi amoksisillin yang digunakan ialah 0,05 %. Konsentrasi ekstrak daun sirih merah sebesar 70 % dengan pelarut DMSO 100 %. Kombinasi ekstrak daun sirih merah:amoksisilin dibuat perbandingan 25:75 ; 50:50 ; dan 75:25 dengan volume total 20 µL/disk. Pengambilan berturut-turut 5µL:15µL; 10µL:10µL; 15µL:5µL yang dimasukkan ke dalam disk antibiotik. Untuk bioautografi menggunakan fase gerak metanol:kloroform (1:39).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah dan amoksisilin menunjukkan efek tidak sinergis pada semua perbandingan dalam menghambat bakteri *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa* dan *S. typhi*. Diameter zona hambat *S. pneumoniae* berturut-turut sebesar 16 mm (25:75), 18 mm (50:50) dan 18 mm (75:25), pada *P. aeruginosa* zona hambat berturut-turut sebesar 12 mm (25:75), 12 mm (50:50), dan 12 mm (75:25), pada *S. typhi* zona hambat berturut-turut sebesar 8 mm (25:75), 12 mm (50:50) dan 10 mm (75:25). Berdasarkan hasil identifikasi senyawa menggunakan deteksi dengan pereaksi semprot dan uji bioautografi diketahui senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dengan menggunakan fase gerak metanol:kloroform ekstrak etanol daun sirih merah terhadap *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi* adalah fenolik.

Kata kunci : *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Piper crocatum*, Amoksisilin.

ABSTRACT

Treatment of infectious disease is the most common with antibiotic therapy. Selection of appropriate antibiotics is needed in the healing process of infection. Antibiotics that can be used as treatment of infections is amoxicillin. Amoxicillin is a bactericidal antibiotic with a broad spectrum, active against Gram positive and Gram negative.

*Red betel leaf has the potential inhibiting bacterial growth. This study aims to determine the synergistic effects of the combination of red betel leaf extract and amoxicillin against *S. pneumoniae* bacterium, *P. aeruginosa* and *S. typhi*. The method used is the Kirby-Bauer diffusion by measuring the diameter of inhibition zone. Amoksisillin concentration used is 0.05%. Red betel leaf extract concentration by 70% to 100% solvent DMSO. The combination of red betel leaf extract: amoxicillin made comparisons 25:75; 50:50, and 75:25 with a total volume of 20 mL / disk. Consecutive decision 5 μ L; 15 μ L; 10 μ L; 10 μ L; 15 μ L: 5 μ L incorporated into the antibiotic disk. To bioautografi using a mobile phase of methanol: chloroform (1:39)*

*The results showed that the combination of ethanol extract of red betel leaf and amoxicillin showed no synergistic effect on all the comparisons in inhibiting bacteria *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *S. typhi*. Inhibition zone diameter of *S. pneumoniae*, respectively for 16 mm (25:75), 18 mm (50:50) and 18 mm (75:25), on *P. aeruginosa* inhibition zone, respectively for 12 mm (25:75), 12 mm (50:50), and 12 mm (75:25), on the *S. typhi* zone bland row of 8 mm (25:75), 12 mm (50:50) and 10 mm (75:25). Based on the results of the identification of compounds using the detection reagents and test spray bioautografi known compounds that have antibacterial activity of methanol: chloroform ethanol extract of red betel leaf against *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhi* are phenolics.*

*Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Piper crocatum*, Amoxicillin.*

PENDAHULUAN

Pengobatan penyakit infeksi yang paling umum adalah dengan terapi antibiotik. Pemilihan antibiotik yang tepat sangat diperlukan dalam proses penyembuhan infeksi. Antibiotik yang bisa digunakan sebagai pengobatan infeksi adalah amoksisilin merupakan antibiotik semisintetik dengan spektrum yang luas, aktif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif, serta keefektifannya juga bergantung pada lokasi infeksi dan kemampuan antibiotik mencapai lokasi tersebut. Amoksisilin merupakan antibiotik beta-laktam yang sering digunakan untuk mengobati infeksi. Pemberian oral amoksisilin menjadi obat pilihan karena

diabsorpsi lebih baik di usus. Sampai saat ini resistensi bakteri terhadap antibiotik masih merupakan masalah besar. Hal ini disebabkan karena makin luasnya pemakaian antibiotik (Tjay dan Rahardja, 2007). Penggunaan antibiotik yang berlebihan mendorong terjadinya resistensi bakteri pada masyarakat (Kumala, 2009). Oleh karena itu masyarakat lebih memilih pengobatan tradisional untuk mengobati penyakit, terutama penyakit infeksi.

Pengobatan karena infeksi bakteri saat ini banyak memanfaatkan potensi tanaman, salah satunya adalah sirih merah (*Piper crocatum*) yang diketahui secara empiris memiliki khasiat untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit (Agoes, 2010). Hasil uji farmakologi menunjukkan bahwa infus daun sirih dapat digunakan sebagai obat batuk, berfungsi sebagai bakteriosid, dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab pneumonia (Mursito, 2002). Menurut Suwondo dkk. (1992) minyak atsiri dan ekstrak daun sirih mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan negatif serta menunjukkan aktivitas antifungi terhadap beberapa macam kapang. Minyak atsiri daun sirih merah mempunyai aktivitas terhadap antibakteri dengan cara menghambat proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk (Masduki, 1996). Berdasarkan penelitian Juliantina dkk. (2009) ekstrak daun sirih merah memiliki kemampuan antibakteri terhadap bakteri Gram positif (konsentrasi 25%) dan Gram negatif (konsentrasi 6,25%).

Berdasarkan data di atas maka penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih merah yang dikombinasikan dengan antibiotik amoksisilin terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi*. Kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah dan amoksisilin diharapkan dapat menunjukkan aktivitas antibakteri yang sinergis dan menghasilkan zona hambatan yang lebih besar dibandingkan tanpa kombinasi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi pengobatan penyakit infeksi.

KATEGORI DAN METODE PENELITIAN

A. Katagori penelitian

Jenis penelitian : penelitian eksperimental

B. Bahan dan alat

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian yaitu: oven dan autoklaf (My Life), *laminar air flow* (Astari Niagara International), inkubator *shaker* (New Brunswick), inkubator (Memmert), bejana, penangas air, neraca analitik, evaporator (Heidolph), dan mikropipet (Socorex).

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi* yang diperoleh dari biakan murni dalam media *Mueller Hinton* (MH) dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, ekstrak daun sirih merah yang diperoleh dari koleksi Dr. Muhammad Da'i, etanol 96%, amoksisilin (Oxoid), akuades, *disc blank* (Oxoid), *disc antibiotic* Kloramfenikol (Oxoid), Eritromisin (Oxoid), Tetrasiklin (Oxoid), Ampisilin (Oxoid), media cair BHI (Oxoid), media MH (Oxoid), cat gram A, cat gram B, cat gram C, cat gram D, DMSO, media KIA (Oxoid), media LIA (Oxoid), media MIO (Oxoid), media MSA (Oxoid), NaCl (Merck), dan reagen Kovac.

C. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi Bakteri

- a. Pengecatan Gram : Suspensi bakteri diambil 1 ujung mata ose dan diratakan pada gelas obyek steril dengan dipanasi diatas nyala lampu spiritus sampai kering, kemudian ditetesi formalin 1% ditunggu 5 menit, kemudian dikeringkan lagi dan preparat siap dicat. Preparat yang telah siap dicat digenangi dengan cat Gram A selama 1–3 menit kemudian digenangi cat Gram B selama 0,5–1 menit, setelah itu cat dibuang dan dicuci dengan air. Preparat kemudian ditetesi cat Gram C sampai warna cat dilunturkan. Setelah itu preparat digenangi cat Gram D selama 1–2 menit kemudian dicuci dan dikeringkan dalam udara kamar. Preparat siap diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 x.
- b. Uji Biokimiawi : Biakan bakteri pada media MH diambil satu mata ose, kemudian ditusukkan kedalam media KIA dan LIA negatif (posisi media miring), dan MIO (posisi media tegak) untuk bakteri Gram negatif. Media MSA untuk

bakteri Gram positif (posisi media miring), kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati hasilnya.

2. Uji pendahuluan

a. Pembuatan Stok Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah

Ekstrak etanol daun sirih merah dibuat dengan konsentrasi sebesar 70%. Ekstrak etanol daun sirih merah ditimbang 3,5 gram kemudian dilarutkan dengan DMSO 100 % sampai 5 mL. Dari stok tersebut, dibuat pengenceran dengan konsentrasi 40 % , 50 % , 60 % , dan 70 %.

b. Pembuatan Stok Amoksisilin

Amoksisilin dibuat dengan menimbang 100 mg, kemudian dilarutkan dengan akuades steril sebanyak 10 ml. Dari stok amoksisilin tersebut dibuat pengenceran dengan konsentrasi 0,025 %, 0,05 %, 0,1 %, dan 0,2 %.

c. Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah dan amoksisilin

Kombinasi ekstrak daun sirih merah:amoksisilin dibuat perbandingan 25:75 ; 50:50 ; dan 75:25 dengan volume total ekstrak etanol dan amoksisilin dalam disk 20 µL. Pengambilan ekstrak etanol daun sirih merah dan amoksisilin berturut-turut adalah 5µL:15µL; 10µL:10 µL ; 15µL:5µL. Suspensi bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aureginosa*, dan *Salmonella typhi* $1,5 \times 10^8$ CFU/mL diambil 200 µL dituang ke dalam media MH dalam cawan petri dan diratakan dengan *spreader glass* steril. Kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah dan amoksisilin sesuai perbandingan dan kontrol (kontrol negatif hanya mengandung pelarut DMSO 100% dan kontrol positif berupa amoksisilin dan ekstrak etanol daun sirih merah) ditetaskan pada disk antibiotik 6 mm kosong, kemudian diletakkan pada media, dipreinkubasikan pada suhu kamar selama 20-30 menit, setelah itu diinkubasi selama 18-24 jam pada 37°C.

D. Teknik Analisis

Teknik analisis yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah dan amoksisilin terhadap bakteri *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa* dan *S. typhi* yaitu dengan membandingkan besarnya diameter zona hambat ekstrak etanol daun sirih merah, amoksisilin, kombinasi ekstrak etanol sirih merah:amoksisilin, *aquabideslata* dan DMSO 100 %. Hasil uji

dikatakan sinergis jika besarnya zona radikal kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah dan amoksisilin lebih besar dibandingkan tanpa kombinasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri bertujuan untuk mengolongkan bakteri dari suatu sampel ke dalam kelompok atau spesiesnya (Tabel 1 dan Tabel 2)

Tabel 1. Hasil Teknik Pengecetan Gram

Bakteri	Pengamatan		Pustaka (Jawetz dkk., 2005)	
	Bentuk	Warna	Bentuk	Warna
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Bulat, berantai/berpasangan	Ungu	Bulat, berantai/berpasangan	Ungu
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Batang, bergerombol	Merah	Batang, bergerombol	Merah
<i>Salmonella typhi</i>	Batang, bergerombol	Merah	Batang, bergerombol	Merah

Tabel 2. Hasil Uji Biokimiawi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi*.

Bakteri	Kliger Iron Agar (KIA)				Pustaka Online (https://media.vwr.com/stibo/hi_res/8041272.pdf)			
	Miring	Dasar	H ₂ S	Gas	Miring	Dasar	H ₂ S	Gas
<i>S. typhi</i>	Kuning	Kuning	+	-	Kuning	Kuning	+	-
<i>P.aeruginosa</i>	Merah	Merah	-	-	Merah	Merah	-	-

Bakteri	LIA (Lysine Iron Agar)				Pustaka Online (http://www.sigmaaldrich.com)			
	Miring	Dasar	H ₂ S	Lysin	Miring	Dasar	H ₂ S	Lysin
<i>S. typhi</i>	Ungu	Ungu	+	+	Ungu	Ungu	+	+
<i>P.aeruginosa</i>	Ungu	Ungu	-	-	Ungu	Ungu	-	-

Bakteri	MIO (Motility Indol Ornithine)			Pustaka Online (https://media.vwr.com/stibo/hi_res/8041272.pdf)		
	Motilitas	Ornitin	Indol	Motilitas	Ornitin	Indol
<i>S. typhi</i>	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-

Tabel 3. Hasil Uji Biokimiawi Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

Bakteri	Hasil Pengamatan Pada Media Manitol Salt Agar (MSA)	Pustaka (http://www.sigmaaldrich.com) Manitol Salt Agar (MSA)
	Perubahan warna media dari merah menjadi kuning.	Perubahan warna media dari merah menjadi kuning
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		

2. Hasil Uji Sensitivitas Bakteri

Uji sensitivitas terhadap bakteri *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, dan *S. typhi* antibiotik dengan menggunakan disk antibiotik. Antibiotik yang digunakan adalah tetrasiklin, ampicilin, eritromisin, kloramfenikol dan amoksisilin (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil Uji Sensitivitas Bakteri *S. pneumonia*, *P. aeruginosa* dan *S. typhi* terhadap Antibiotik

Bakteri	Disk Antibiotik	Standar resistensi zona hambat bakteri (mm)			Diameter zona hambat (mm)	Keterangan
		Resisten	Intermediate	Sensitif		
<i>S. pneumoniae</i>	Tetrasiklin (30 µg)	≤ 11	12-14	≥ 15	21	Sensitif
	Ampisilin (10 µg)	≤ 13	14-16	≥ 17	18	Sensitif
	Eritromisin (15 µg)	≤ 16	17-19	≥ 20	18	Intermediate
	Kloramfenikol (30 µg)	≤ 12	13-17	≥ 18	16	Intermediate
	Amoksisilin (25 µg)	≤ 15	16-20	≥ 21	24	Sensitif
<i>P.aeruginosa</i>	Tetrasiklin (30 µg)	≤ 11	12-14	≥ 15	17	Sensitif
	Ampisilin (10 µg)	≤ 13	14-16	≥ 17	8	Resisten
	Eritromisin (15 µg)	≤ 16	17-19	≥ 20	13	Resisten
	Kloramfenikol (30 µg)	≤ 12	13-17	≥ 18	15	Intermediate
	Amoksisilin (25 µg)	≤ 15	16-20	≥ 21	22	Sensitif
<i>S. typhi</i>	Tetrasiklin (30 µg)	≤ 11	12-14	≥ 15	8	Resisten
	Ampisilin (10 µg)	≤ 13	14-16	≥ 17	6	Resisten
	Eritromisin (15 µg)	≤ 16	17-19	≥ 20	16	Resisten
	Kloramfenikol (30 µg)	≤ 12	13-17	≥ 18	18	Sensitif
	Amoksisilin (5 µg)	≤ 15	16-20	≥ 21	22	Sensitif

Tabel 4 menunjukkan hasil uji sensitivitas bahwa bakteri *S. pneumonia* bersifat sensitif terhadap antibiotik amoksisilin dengan zona hambat sebesar 24 mm. Pada bakteri *P. aeruginosa* bersifat sensitif terhadap antibiotik amoksisilin dengan zona hambat 22 mm. sedangkan pada bakteri *S. typhi* bersifat sensitif terhadap antibiotik amoksisilin dengan zona hambat 22 mm.

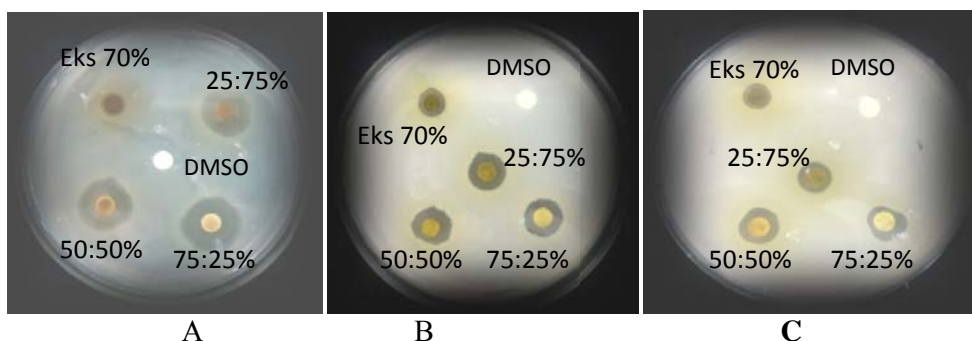
E. Uji Kombinasi Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ini menggunakan 2 macam kontrol, yaitu kontrol negatif berisi DMSO 100% dan kontrol positif ekstrak etanol daun sirih merah. DMSO (*Dimethylsulfoxide*) merupakan pelarut yang baik untuk ion organik maupun senyawa organik. Diameter disk yang digunakan adalah 6 mm, dan dari hasil orientasi ekstrak yang bisa tertampung dalam disk sebanyak 20 µL. Konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah 70% dan amoksisilin 0,05% yang digunakan untuk uji aktivitas terhadap bakteri *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, dan *S. typhi* (Tabel 5 dan Gambar 1).

Tabel 5. Hasil Uji Kombinasi Ekstrak Etanol 70% Daun Sirih Merah dan Amoksisilin Terhadap Bakteri *S. pneumonia*, *P. aeruginosa* dan *S. typhi*.

Bakteri	Bahan uji dan Diameter Zona Hambat (mm)					Amoksisilin 0,05%
	Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah 70 %	Amoksisilin: Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah 70% (25:75)	Amoksisilin: Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah 70% (50:50)	Amoksisilin: Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah 70 % (75:25)	DMSO 100 %	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	8 ± 0	16 ± 0,70	16 ± 0,11	18 ± 0,70	6 ± 0	19 ± 0,07
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9,6 ± 0,42	12 ± 0	12 ± 0,21	12 ± 0,70	6 ± 0	19 ± 0,07
<i>Salmonella typhi</i>	7 ± 0,42	8 ± 0,91	12 ± 0,21	10 ± 0,42	6 ± 0	16 ± 0,84

Diameter zona hambat termasuk diameter disk.



Gambar 1. Hasil Uji Kombinasi Ekstrak Etanol 70% Daun Sirih Merah dan Amoksisilin Terhadap Bakteri *S. pneumonia* (A), *P. aeruginosa* (B) dan *S. typhi* (C).

Hasil perbandingan kombinasi ekstrak daun sirih merah:amoksisilin menunjukkan tidak signifikan pada perbandingan 25:75 dengan 50:50 pada bakteri *S. pneumoniae*, sedangkan pada perbandingan 25:75 dengan 75:25 menunjukkan perbedaan bermakna. Pada uji bakteri *P. aeruginosa* menunjukkan tidak signifikan pada semua perbandingan 25:75, 50:50, dan 75:25. Pada bakteri *S. typhi* menunjukkan perbedaan bermakna yang signifikan pada semua perbandingan yaitu 25:75, 50:50, dan 75:25. Hal ini dapat disimpulkan bahwa adanya perbandingan kombinasi dapat mempengaruhi signifikan terhadap bakteri *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa* dan *S. typhi*.

F. Analisis KLT

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol 70% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav). Uji pendahuluan KLT dilakukan untuk mencari fase gerak yang tepat agar memberikan pemisahan yang baik. Dari hasil uji pendahuluan dengan mencoba beberapa fase gerak dan berbagai perbandingan, diperoleh bahwa metanol:kloroform (1:39) v/v memberikan hasil pemisahan yang terbaik untuk ekstrak etanol 70% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav) (Tabel 6).

Tabel 6. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah dengan Fase Gerak Metanol-Kloroform (1:39) v/v dengan jarak Pengembangan 6 cm

Bercak Sebelum Di semprot	Deteksi Pereaksi Semprot	Perkiraan Senyawa
------------------------------	--------------------------	----------------------

Rf (cm)	Sinar UV (nm)		FeCl ₃	Dragendorf	Vanilin H ₂ SO ₄	
	254	366	Vis	Vis	Vis	
0,21	Pem	F. Coklat	Hi-Co	Hijau	Hi-Ku	Fenolik
0,41	Pem	F. Me-Co	-	-	-	-
0,53	-	-	-	-	Hi-Ku	-
0,61	-	F. Merah	-	-	-	-
0,75	Pem	F. Me-Co	-	-	-	-
0,8	-	F. Merah	-	-	-	-
0,88	-	F. Coklat	-	Hi-Co	-	Alkaloid,
0,96	-	E.Coklat	Hi-Co	Coklat	Hi-Ku	Alkaloid, Fenolik

Keterangan:
Pem : Pemadaman
F: Fluoresensi
Vis: Visual

Hi-Co: Hijau ke Coklatan
Hi-Ku: Hijau ke Kuningan

Hasil KLT yang telah dielusi fase gerak metanol:kloroform (1:39) v/v kemudian dilihat pada sinar UV₂₅₄ nm dan UV₃₆₆ nm, selanjutnya dideteksi dengan beberapa pereaksi penampak bercak antara lain FeCl₃, sitoborat, Dragendroff, vanillin H₂SO₄. Bercak yang terdeteksi kemudian ditentukan harga Rf dan penampakan warnanya. Harga Rf yang diperoleh kemudian dicari harga Rf dengan mengalikan angka Rf dengan faktor 100 (h) (Stahl, 1985).

Senyawa fenolik dapat dideteksi menggunakan pereaksi semprot FeCl₃ yang secara visual akan memberikan warna hijau ke coklatan, biru, ungu, merah atau hitam (Harbone, 1987). Hasil pengamatan menunjukkan bercak warna hijau ke coklatan yang menandakan fase gerak metanol:kloroform (1:39) v/v ekstrak etanol daun sirih merah mengandung senyawa fenolik (Tabel 8 dan Gambar 7). Senyawa alkaloid dapat dideteksi menggunakan pereaksi semprot Dragendorff yang akan memberikan warna coklat, *orange* hingga coklat (Wagner dan Bladt, 1995). Hasil penelitian menunjukkan bercak berwarna hijau kecoklatan dan coklat yang menandakan fase gerak metanol:kloroform (1:39) v/v ekstrak etanol daun sirih merah mengandung sanyawa alkaloid (Tabel 8 dan Gambar 7). Terpenoid dideteksi dengan pereaksi semprot Vanilin-H₂SO₄, menunjukkan adanya perubahan warna menjadi biru, merah, hingga merah tua secara visual (Depkes RI, 1987). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun sirih merah dengan fase gerak metanol:kloroform (1:39) v/v tidak mengandung senyawa terpenoid (Tabel 8 dan Gambar 7).

G. Uji Bioautografi

Uji bioautografi dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil uji aktivitas ekstrak etanol 70% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav) terhadap bakteri *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, dan *S. typhi* menunjukkan adanya zona hambat di sekitar disk sehingga dilakukan uji bioautografi untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

Berdasarkan hasil identifikasi senyawa menggunakan deteksi dengan pereaksi semprot dan uji bioautografi maka dapat diketahui bahwa senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dengan fase gerak metanol:kloroform (1:39) ekstrak etanol daun sirih merah terhadap *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi* yaitu fenolik. Setelah dibandingkan dengan hasil identifikasi KLT, zona pada Rf 0,21 terdapat senyawa yaitu senyawa fenolik. Sehingga dapat diartikan bahwa golongan senyawa dari ekstrak daun sirih merah yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. pneumoniae* dan *P. aeruginosa* merupakan senyawa fenolik. Pada Rf 0,41 dan 0,75 merupakan senyawa dengan ikatan rangkap terkonjugasi yang berefek antibakteri pada semua bakteri *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa* dan *S. typhi*, tetapi belum diketahui golongan senyawa tersebut.

Berdasarkan hasil identifikasi senyawa menggunakan deteksi dengan pereaksi semprot dan uji bioautografi maka dapat diketahui bahwa senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dengan menggunakan fase gerak metanol:kloroform

(1:39) ekstrak etanol daun sirih merah terhadap *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi* yaitu fenolik. Senyawa fenol merupakan antiseptik tertua dengan khasiat bakterisid dan fungisid. Mekanisme kerjanya berdasarkan denaturasi protein sel bakteri (Tjay dan Raharja, 2007).

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa :

1. Kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah dan amoksisilin menunjukkan efek tidak sinergis dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi*.
2. Hasil uji bioautografi menunjukkan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi* adalah golongan senyawa fenolik.

B. Saran

Ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav.) perlu dikombinasikan dengan antibiotik lain dan diujikan terhadap bakteri yang berbeda agar berefek sinergis terhadap bakteri yang sama.

DAFTAR ACUAN

- Agoes, A., 2010, *Tanaman Obat Indonesia*, Jakarta, Penerbit Salemba Medika.
- Backer , C. A., Den Brink Van B. J. R., 1963, *Flora of Java*, Published under The auspices of the rijksherbarium, 167.
- Bylka, W., Matlawska, I., and Pilewski, N. A., 2004, Natural Flavonoids as Antimicrobial Agents , *Jana*, 7,2,24-27.
- Cowan, M. M., 1999, Plan Products as Antimicrobial Agents, *Clinical Mikrobilogy Reviews*, 12 (24), 1-72.
- DepKes RI, 1987, *Analisis Obat Tradisional*, Jilid 1, 57-67, Direktorat Jendral Pengawasan Obat Dan Makanan, Jakarta.
- Harborne, J. B., 1996, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K. dan Soediro, 6-7, 13-15, 49, 53, 262, Bandung, Penerbit ITB.
- Hart, T. & Shears, P., 1997, *Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran*, 118, 130, Diterjemahkan oleh Pratama, F. E. & Kumala, P., Jakarta, Hipokrates.

- Hasbi, M., 2011, Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 11229, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Katzung, B. G., 2004, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Edisi 8, diterjemahkan oleh bagian farmakologi Fakultas Kedokteran UNAIR, 83-85, Surabaya, Salemba Medika.
- Kusumaningtyas, E., Astuti, E. dan Darmono., 2008, Sensitivitas Metode Bioautografi Kontak dan Agar Overlay dalam penentuan Senyawa Antikapang, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 6 (2), 75-76.
- Jawetz , E., Melnick, J. L., dan Adelberg, E. A., 2001, *Mikrobiologi kedokteran*, Edisi XXII, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Jakarta, Penerbit Salemba Medika.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., dan Adelberg, E. A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., Alimsardjono, L., Edisi XXII, Jakarta, Penerbit Salemba Medika.
- Masduki, I., 1996, Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Cermin Dunia Kedokteran*.
- Maryati, Indrayudha, P., Yuliani, R., 2009, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Mursito B., 2002, *Ramuan Tradisional untuk Penyakit Malaria*, Jakarta, Penebar Swadaya
- Reswari, N. H. H., 2011, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Shigella dysenteriae*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Stahl, E., 1985, *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopis*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K. dan Soediro, I., 1 (1) 6-7, Bnadung, ITB.
- Siswandono & Bambang S., 1995, *Kimia Medisinal*, Surabaya, UNAIR Press.
- Suwondo, S., Sidik, dan Soelarko R. M. 1992, Aktivitas Antibakteri Daun Sirih Terhadap Bakteri Gigivitis dan Bakteri Pembentuk Plak/karies Gigi (*Streptococcus mutans*), *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, 1 (1) 1-4, Jakarta.

- Tjay, T. H. dan Rahardja, K., 2002, *Obat-Obat Penting (Khasiat, Penggunaan. Dan Efek-Efek Sampingnya)*, Edisi V, 63, 42-42, Jakarta, PT Elex Media Komputindo.
- Wagner, H. and Bladt, S., 1995, *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*, second edition, 6, 74, 152, 306, Springer, New York.